نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۰ شماره ۴ / سال ۱۳۹۹ صفحات ۹۳-۷۳

بررسی کارایی تلقیح زادمایه‌های *انتروباکتر کلوآسه* بر خصوصیات رشدی، عملکرد روغن و نوع اسیدهای چرب کلزا (*Brassica napus* L.)

آی‌سان وصلی دیزجیکان[۱]، محمدرضا ساریخانی[۲*]، نصرت اله نجفی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/٤/۲۷
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد شیمی و حاصلخیزی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* مسئول مکاتبه: Email: rsarikhani@yahoo.com

چکیده

اهداف: کودهای زیستی جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی پایدار دارند. افزایش ماندگاری و زنده‌مانی باکتری در زادمایه‌های تولیدی با بکارگیری مواد مختلف، به منظور افزایش اثربخشی کودهای زیستی مورد توجه است. پژوهش حاضر با هدف بررسی کارایی زادمایه‌های مایع باکتری محرک رشد گیاه *Enterobacter cloacae* S16-3 بر میزان رشد و درصد روغن دانه کلزا (*Brassica napus* L.) رقم هایولا ۳۰۸ انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار (شامل ۹ تیمار مربوط به زادمایه‌های مایع؛ F_1-F_9، یک تیمار شاهد منفی بدون تلقیح و افزودن کود NPK و دو تیمار کنترل مثبت شامل ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد مقادیر NPK) و ۳ تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در خاک با بافت لوم شنی استریل شده در سال۱۳۹۷ انجام شد. باکتری *انتروباکتر کلوآسه* در ترکیب‌های مختلف در قالب ۹ زادمایه مایع با مقادیر مشخص و در حالت‌های تلفیقی مختلف شامل گلیسرول، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، ترهالوز، کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC)، صمغ‌عربی، پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP)، گلوکز و نشاسته تهیه شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در حضور باکتری *E. cloacae* (در قالب زادمایه‌های نه‌گانه) و تیمارهای ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته، شاخص کلروفیل برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه، حجم ریشه در بوته، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه و دانه، عملکرد دانه در بوته، عملکرد روغن در بوته، وزن خورجین در بوته، وزن تر و خشک کل، درصد روغن دانه و درصد اسیدهای چرب افزایش یافت. اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *E. cloacae* بر وزن هزار دانه معنی‌دار نشد. نتایج حاصل از درصد روغن دانه و اسید چرب نشان داد که تیمار F_9 (گلیسرول، گلوکز، صمغ‌عربی، PEG) بیشترین درصد روغن دانه (٤۷/۰۲ درصد) و بیشترین مقدار اسید اولئیک (۵۳/۱ درصد) را در بین زادمایه‌ها به خود اختصاص داد و سبب افزایش کیفیت روغن گردید.

نتیجه‌گیری: در پایان با توجه به نتایج این آزمایش زادمایه‌های F_5 (صمغ‌عربی، نشاسته، PEG) و F_9 برای بهبود خصوصیات رشدی، عملکرد روغن و نوع اسیدهای چرب کلزا توصیه می‌شود.
واژه‌های کلیدی: اثربخشی، *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه مایع، درصد روغن دانه، کلزا

The Efficiency of *Enterobacter cloacae* Inocula on Growth Properties, Oil Yield and Fatty Acids Type of Rapeseed (*Brassica napus* L.)

Aysan Vasli Dizajeyekan[1], Mohammad Reza Sarikhani[2*], Nosratollah Najafi[3]

Received: January 12, 2020 Accepted: July 17, 2020
1-MSc Student of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2-Assoc. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3-Prof. of Soil Chemistry and Fertility, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
*Corresponding Author Email: rsarikhani@yahoo.com

Abstract

Background & Objective: Biofertilizers play major role in sustainable agriculture. Increasing the longevity and survival of the bacteria in the production of inoculants by using different materials, is notable to increase the effectiveness of biofertilizers. The aim of present study was to investigate the efficiency of liquid inocula of *Enterobacter cloacae* S16-3 on growth rate and percentage of rapeseed seed oil (*Brassica napus* L.) cultivar hayola 308.

Materials & Methods: The experiment was carried based on completely randomized design (CRD) with 12 treatments (including 9 liquid inoculants; F_1-F_9, one negative control treatment without adding any bacteria and NPK, and two positive controls e.g. 100NPK and 70NPK) and three replications, in the greenhouse of Agricultural Faculty of University of Tabriz in a sterilized sandy loam soil in 2018 . Nine liquid inoculants of S16-3 were prepared using different amounts of materials including glycerol, polyethylene glycol (PEG), trehalose, carboxymethylcellulose (CMC), Arabic gum (AG), polyvinyl pyrrolidone (PVP), glucose and starch, in different combinations.

Results: The results showed that in the presence of *E. cloacae* bacteria (in the form of nine inoculants), 100NPK and 70NPK treatments, the number of silique per plant, number of seed per plant, leaf chlorophyll index, plant height, stem diameter, root volume per plant, fresh and dry weight of shoot, root and seed, seed yield per plant, oil yield per plant, silique weight per plant, total fresh and dry weight, seed oil percentage and fatty acids content increased. The inoculation effect of *E. cloacae* liquid inocula on 1000 seed weight was not significant. The results percentage of seed oil and fatty acid analysis showed that the highest percentage of seed oil (47.02%) and the highest amount of oleic acid (53.1%) was obtained by F_9 (glycerol, glucose, AG, PEG) treatment, and oil quality was affected by bacterial inoculation.

Conclusion: According to the results of this experiment F_5 (AG, starch, PEG) and F_9 inoculants can be recommended to improve on growth properties, oil yield and type fatty acids of rapeseed.

Keywords: Effectiveness, *Enterobacter cloacae*, Liquid Inoculant, Percentage Seed Oil, Rapeseed.

مقدمه

در کشاورزی پایدار باتوجه‌به اثرهای منفی کودهای شیمیایی، پژوهشگران در تلاشند تا از ریزجانداران خاکزی برای رفع این نقص، حذف سموم و سایر آلاینده‌های خاک و کمک به حفظ سلامت گیاه استفاده نمایند (هان و همکاران ۲۰۰٤ و سعید و همکاران ۲۰۱۵). لذا، از گزینه‌های مناسب که می‌تواند بدون تخریب محیط زیست، حاصلخیزی خاک و در نهایت افزایش عملکرد گیاه را تضمین نماید، استفاده از کودهای زیستی است (قاسمی و همکاران ۲۰۱۹). کود زیستی به‌صورت ترکیب‌های حاوی ریزجانداران زنده که دارای توانایی کلنیزاسیون ریشه‌های گیاهان زراعی می‌باشد، تعریف می‌شود و از طریق تأمین یا افزایش فراهمی عناصر غذایی برای گیاه میزبان خود باعث تحریک رشد آن می‌شود (قاسمی و همکاران ۲۰۱۹). دو حالت کلی برای ارائه کودهای زیستی وجود دارد: حامل‌های جامد و مایع. حامل باکتری وسیله تحویل ریزجاندار زنده از کارخانه به مزرعه می‌باشد (باشان و همکاران ۲۰۱٤). حامل باکتری به مواد جامد، مایع یا نیمه‌جامدی گفته می‌شود که قادر است جمعیت مشخصی از باکتری مورد نظر را در مدت معین، در خود حفظ کند. ماده حامل، ضمن حفظ جمعیت قابل قبول از باکتری، باید وسیله‌ای برای عرضه باکتری به سطح بذر یا رایزوسفر گیاه باشد (قاسمی و همکاران ۲۰۱۹ و مشهدی اصغری و علی‌اصغرزاده ۲۰۰۵). ویژگی‌های یک حامل برتر شامل موارد زیر می‌باشد: ۱- یک بستر مناسب برای ریزجاندار هدف باشد؛ ۲- از نظر فیزیکی و شیمیایی یکنواخت باشد؛ ۳- ظرفیت جذب آب بالایی داشته باشد؛ ٤- توان بافری بالایی داشته باشد و pH آن قابل تنظیم باشد؛ ٥- به‌راحتی بتوان آن را با اتوکلاو یا پرتو گاما استریل نمود؛ ٦- برای سویه باکتری و گیاه غیرسمی باشد؛ ۷- در دسترس بوده و قیمت ارزانی داشته باشد؛ ۸- حالت کلوخه‌ای نداشته باشد و به‌خوبی به بذر بچسبد؛ ۹- زیست تجزیه‌پذیر باشد (قاسمی و همکاران ۲۰۱۹ و باشان و همکاران ۲۰۱٤). در کنار این ویژگی‌ها یک ماده حامل خوب باید تأمین‌کننده رشد باکتری و حفظ جمعیت استاندارد آن برای مدت حداقل ٦-۳ ماه باشد (مشهدی اصغری و علی اصغرزاده ۲۰۰۵).

حامل‌های مایع از جدیدترین حامل‌ها هستند. در ترکیب زادمایه‌های مایع با افزودن مواد ضد تنش دما و ضد تنش خشکی از جمله ساکارز، ترهالوز، صمغ‌عربی و PVP[1] می‌توان به زنده‌مانی باکتری کمک کرد (هرمن و لسیر ۲۰۱۳). از جمله مزایای این حامل‌ها راحتی فرایند تولید و ماندگاری بیشتر باکتری، حفاظت از باکتری در برابر تنش‌های مختلف محیطی و افزایش اثربخشی آن‌ها می‌باشد (جامبوکار و شارما ۲۰۱٤). بسیاری از ریزجانداران مفید به‌عنوان کود زیستی برای گیاهان زراعی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. باکتری *انتروباکتر کلوآسه* از جمله باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR[2]) است که در نظام‌های تولید گیاهی به‌عنوان کود زیستی مورد بررسی و استفاده قرار گرفته است (کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸ و ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸). بعد از تهیه ترکیب‌های مختلف از این باکتری، می‌توان اثرهای مایه‌زنی آن را بر گیاهان مختلف سنجید، اما از این میان گیاه کلزا قابل‌توجه است زیرا که کلزا در بین دانه‌های روغنی پس از سویا و نخل‌روغنی، مقام سوم را دارد. این محصول به‌دلیل دارا بودن ذخایر غنی اسیدهای چرب و پروتئین‌های گیاهی، در بازارهای جهانی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (خاتمیان و همکاران ۲۰۱۱). کلزا یکی از گیاهان مفید از خانواده براسیکاسه است. این گیاه یک محصول یک‌ساله با توانایی تولید بذر بالا است. دانه کلزا حاوی ٤۰ تا ٤۸ درصد روغن و کنجاله آن حاوی ۳۵ تا ٤۰ درصد پروتئین است (خیاوی و همکاران ۲۰۱۷). درصد زیاد روغن در دانه کلزا و

1-Polyvinyl Pyrrolidone

۲- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

ترکیب مناسب اسیدهای چرب غیراشباع آن (اسید اولئیک ٥٦ درصد، اسید لینولئیک ۲۱/٥ درصد و اسید لینولنیک ۸ درصد) سبب توجه اکثر کشورهای جهان به این دانه روغنی شده است (نلدا و همکاران، ۲۰۰۷). روغن کلزا منبع نسبتاً خوبی از توکوفرول‌ها است آلفا توکوفرول بیشترین فعالیت حیاتی (ویتامین E) را داشته و گاما توکوفرول دارای بیشترین اثر ضد اکسیدانی است. کل مقدار استرول‌ها در روغن کلزا در حدود ۰/۵۳ – ۰/۹۷ درصد است. براسیکااسترول، بتاسیتواسترول و کمپسترول از استرول‌های عمده در روغن کلزا هستند. براسیکااسترول شاخص روغن کلزا می‌باشد و برای تشخیص تقلب سایر روغن‌ها با این روغن به‌کار می‌رود (کدیور و همکاران ۲۰۱۰). درصد روغن دانه می‌تواند متأثر از عواملی مانند شرایط تغذیه‌ای، شرایطی محیطی، شرایط خاک و غیره باشد که حضور ریزجانداران در ریزوسفر می‌تواند باعث افزایش درصد روغن دانه و درصد اسیدهای چرب مفید در گیاه شود. باکتری *E. cloacae* از جمله این ریزجانداران است که رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. باکتری با تثبیت نیتروژن و انتقال آن به سیستم رشد گیاه موجب ایجاد تعادل در جذب عناصر مورد نیاز گیاه شده و همچنین با حل کردن فسفر نامحلول و در نتیجه قابل جذب شدن آن برای گیاه و با ترشح هورمون اکسین، باعث گسترش بیشتر و بهتر سیستم ریشه‌ای شده و موجب جذب بهتر عناصر و در نتیجه رشد بیشتر گیاه می‌شود و با افزایش عملکرد گیاه، موجب افزایش زیست‌توده و عملکرد دانه و درصد روغن دانه و درصد اسیدهای چرب مفید در گیاه می‌شود (ساجدی و همکاران ۲۰۱۱). دو جنبه اصلی که در موفقیت مایه‌تلقیح وجود دارد، اثربخشی جدایه باکتریایی و استفاده از تکنولوژی مناسب است. براساس بررسی‌های انجام شده و افزایش روزافزون کشت گیاه کلزا و باتوجه‌به اینکه تحقیقات انجام شده در این زمینه محدود بوده است، در این بررسی انتظار می‌رود که بتوان یک زادمایه مایع مناسب از باکتری *E. cloacae* را برای بهبود رشد و کیفیت روغن کلزا معرفی نمود.

لذا این مطالعه با هدف تعیین زادمایه مایع مناسب از نظر زنده مانی باکتری و بهبود میزان رشد و کیفیت روغن دانه کلزا و بررسی اثر مایه‌زنی باکتری بر درصد روغن دانه و نوع اسیدهای چرب دانه کلزا در شرایط گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

انتخاب باکتری

باکتری مورد استفاده در این تحقیق باکتری *Enterobacter cloacae* S16-3 می‌باشد که از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تأمین شده است. این باکتری گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و میله‌ای شکل از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد. باکتری *Enterobacter* باتوجه‌به توان حل کردن فسفر، آزادسازی پتاسیم و توان رشد در محیط فاقد نیتروژن (قدرت تثبیت نیتروژن) (جدول ۱) به‌عنوان باکتری محرک رشد گیاه که اثرهای مثبت آن در رشد گیاهان در آزمایش‌های پیشین مشخص شده بود، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت (مرادی و ساریخانی ۲۰۱٦ و ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸ و کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸).

جدول ۱- برخی از خصوصیات محرک رشدی باکتری مورد استفاده در آزمایش

باکتری	نوع گرم	تثبیت نیتروژن	انحلال فسفر نامحلول (mg/L)	آزادسازی پتاسیم (mg/L)	تولید اکسین (mg/L)
E. cloacae S16-3	منفی	قادر به رشد در محیط عاری از نیتروژن	٥١٠	۱۳	۳/۱۷

آماده‌سازی زادمایه‌ها و بررسی جمعیت زنده باکتری در تیمارهای حامل

حامل مایع با به‌کارگیری موادی از قبیل گلیسرول، PEG، ترهالوز، CMC، صمغ عربی، گلوکز، PVP و نشاسته با مقادیر مشخص و در حالت‌های تلفیقی مختلف در تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. فرمولاسیون حامل‌های مایع مطابق جدول ۲ تهیه شدند (قاسمی ۲۰۱۸).

برای تهیه زادمایه‌های مایع، ابتدا در فالکون‌های مجزا برای هر تیمار حامل مایع در حجم ۵ میلی‌لیتر مواد تهیه شد و تحت شرایط اتوکلاو استریل گردید. اعمال غلظت‌های مواد مورد استفاده برای حجم نهایی که ۱۰ میلی‌لیتر بود محاسبه گردید. زیرا ۵ میلی‌لیتر از کشت باکتری نیز به آن افزوده شد. فرمولاسیون حامل‌های مایع طبق شرایط ذکر شده تهیه شدند، برای مثال:

F_1: ۰/۱ گرم CMC درون فالکون‌ها ریخته و با کمک گرمای هیتر در آب حل شد. سپس ۰/۰۵ گرم ترهالوز به هر فالکون اضافه کرده و با ورتکس حل شد. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر گلیسرول به هر فالکون افزوده و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد.

جدول ۲- فرمولاسیون حامل‌های مایع (درصدهای وزنی- حجمی یا حجمی-حجمی)

F_1	گلیسرول (۱ درصد)، ترهالوز (۰/۵ درصد)، کربوکسی متیل سلولز (۱ درصد)
F_2	گلیسرول (۱ درصد)، ترهالوز (۰/۵ درصد)، PVP (۲ درصد)
F_3	گلیسرول (۱ درصد)، نشاسته (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F_4	ترهالوز (۰/۵ درصد)، صمغ عربی (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F_5	صمغ عربی (۱ درصد)، نشاسته (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F_6	ترهالوز (۰/۵ درصد)، نشاسته (۱ درصد)، PVP (۲ درصد)
F_7	گلیسرول (۱ درصد)، ترهالوز (۰/۵ درصد)، گلوکز (۰/۵ درصد)، صمغ عربی (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F_8	x (ترکیب مورد استفاده در یک برند تجاری)
F_9	گلیسرول (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)، صمغ عربی (۱ درصد)، گلوکز (۰/۵ درصد)

این فرمولاسیون‌ها پس از تهیه توسط اتوکلاو استریل شدند. کشت شبانه *انتروباکتر* در محیط NB[1] برای تلقیح آماده شد و برای استقرار جمعیت اولیه 10^9 CFU/g، ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به هر فالکون افزوده شد. برای هر زادمایه مایع ۳ نمونه مجزا (فالکون) تهیه و در دمای اتاق نگهداری شد و علاوه بر شمارش جمعیت زنده باکتری در زمان‌های صفر و ۱۸۰ روز یک نمونه نیز بعد از گذشت ٦ ماه برای مایه‌زنی گیاه کلزا در کشت گلدانی استفاده شد.

آماده‌سازی خاک، کشت گیاه و اعمال تیمارهای باکتریایی

این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم ومهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام گرفت. برای بررسی اثر زادمایه‌های مختلف مایع باکتری *E. cloacae* بر رشد و مقدار روغن کلزا، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار مربوط به زادمایه‌های مایع شامل F_1 تا F_9، یک تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) و دو تیمار کنترل مثبت ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK با سه تکرار انجام شد. خاک مورد استفاده پس از

۱-Nutrient broth

عبور از غربال ٤ میلی‌متری در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ اتمسفر استریل شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای (ساریخانی و همکاران ۲۰۱۹)

بافت خاک	pH گل اشباع	FC (%)	EC_e (dS/m)	OC (%)	CCE (%)	فسفر قابل‌جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل‌جذب (mg/kg)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)
Sandy loam	۷/٥٦	۱۲/٦	۱/۹	۰/۱۷	۲/٥٦	۳	۱۹۸	۱۸	۱۳	٦۹

در این آزمایش از بذر کلزا (*Brassica napus* L.) رقم هایولا ۳۰۸ استفاده شد که پس از ضدعفونی در هیپوکلریت سدیم ۰/٥ درصد به‌مدت ٥ دقیقه، مورد استفاده قرار گرفت. به هر گلدان به میزان ۳/۳۰۰ کیلوگرم خاک استریل اضافه شد، سپس با آب استریل اشباع شد و بعد از رسیدن به شرایط رطوبتی FC، ٦ بذر جوانه‌دار شده کلزا در هر گلدان کشت شد، که در نهایت ۳ بوته سالم در هر گلدان نگه داشته شده و بقیه از گلدان خارج شدند. در تمامی گلدان‌ها سایر نیازهای عناصر غذایی به جز NPK به مقدار لازم به‌صورت محلول و به‌طور یکنواخت به همه گلدان‌ها اضافه شد. اما در مورد عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، که هدف اصلی این آزمایش بود در تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) هیچ کود شیمیایی و باکتری استفاده نشد، در مورد تیمار شاهد مثبت ۱۰۰ درصد NPK، بر اساس آزمون خاک و تجربیات قبلی ۱۰۰ درصد مقدار کودی توصیه شده معادل (٥٦/٥ mg N/kg soil از منبع اوره)، (۱۳ mg P/kg soil از منبع سوپر فسفات تریپل) و (mg ۳۱/۳ K/kg soil از منبع سولفات پتاسیم) و در تیمار شاهد مثبت ۷۰ درصد NPK، ۷۰ درصد مقادیر فوق در هر گلدان استفاده شد. در زادمایه‌ها نیز، ۷۰ درصد مقدار NPK استفاده شد، چون فرض آزمایش این بود که باکتری بتواند ۳۰ درصد نیاز گیاه به این عناصر را تأمین کند. ۱۰ میلی‌لیتر از هر زادمایه باکتریایی به‌طور مساوی بین تکرارهای سه گانه هر تیمار یعنی در سه گلدان پخش شد. در طول دوره‌ی رشد گیاه از طریق توزین، رطوبت تمامی گلدان‌ها در دامنه رطوبتی (FC ۰/۸ – ۰/۷) نگهداری شد.

صفات مورد اندازه‌گیری

در طول رشد و قبل از برداشت گیاه صفات شاخص کلروفیل (با استفاده از کلروفیل‌سنج در پهن‌ترین بخش برگ و در سه برگ سالم و شاداب از هر گلدان) اندازه‌گیری شد. پس از برداشت گیاه نیز صفات قطر ساقه (کمی بالاتر از طوقه با استفاده از کولیس)، ارتفاع بوته (از محل طوقه تا انتهای بلندترین شاخه با سانتی‌متر)، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته (با استفاده از دستگاه بذرشمار)، وزن هزاردانه، حجم ریشه در بوته (با استفاده از تغییر حجم آب در استوانه‌ی شیشه‌ای مدرج)، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه و دانه اندازه‌گیری شد. نمونه‌های گیاهی به‌مدت ۲ روز در دمای ۷۰ درجه سلسیوس درون آون نگهداری شدند سپس وزن خشک آن‌ها نیز تعیین شد.

تعیین درصد روغن دانه و اندازه‌گیری اسیدهای چرب موجود در آن

استخراج روغن دانه کلزا با استفاده از روش سوکسله، عملکرد روغن دانه از حاصلضرب عملکرد دانه در بوته در درصد روغن دانه و درصد اسیدهای چرب موجود در روغن دانه با استفاده از دستگاه

کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد (آزادمرد دمیرچی ۲۰۱۲).

برای تفکیک و جداسازی اسیدهای چرب غالباً از استرهای متیلیک آنها استفاده می‌کنند که نقطهٔ جوش پائین‌تری دارند. جهت متیله کردن اسیدهای چرب موجود در روغن‌های به‌دست آمده از نمونه‌ها، ابتدا ۱۰ میلی گرم روغن در ۰/۵ میلی لیتر n-هگزان در لوله آزمایش حل شده و سپس ۲ میلی لیتر KOH ۲ نرمال در متانول خشک به آن اضافه گردید. لوله آزمایش حاوی محلول مذکور در حمام آب ٦۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. سپس لوله آزمایش تحت جریان آب، سرد و به آن ۲ میلی لیتر محلول نمک کلرید سدیم ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) و ۰/۵ میلی لیتر n–هگزان اضافه شد. پس از این مرحله مخلوط حاصله سانتریفوژ و لایه هگزانی حاوی متیل استر اسیدهای چرب جداسازی می گردد، سپس جهت تعیین نوع اسیدهای چرب و میزان آنها هر یک از نمونه‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی (YL6100 GC ساخت شرکت Young lin, Korea) با ستونی به طول ٦۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲ میکرومتر تزریق شدند. دمای اولیه ۸۰ درجه سانتی گراد و با سرعت ۲۰ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد رسانده شد. سپس با سرعت ۳ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای ۲٦۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و در این دما ۱۰ دقیقه نگهداری شد. روش تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی به صورت Split با نسبت ۱به۲۰ انجام شد. دمای دریچه تزریق ۲٦۰ درجه سانتی‌گراد، دمای آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، فشار گاز حامل هلیوم ٤/۵ بار و میزان تزریق ۱ میکرولیتر بود. پس از تزریق هر نمونه به دستگاه گاز کروماتوگراف، منحنی‌های رسم شده و زمان بازداری[1] مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد و زمان بازداری آن مقایسه گردید. که به این ترتیب نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه‌های مورد آزمایش مشخص شدند. جهت رسم منحنی‌ها و پردازش داده‌ها از نرم‌افزار Young Lin Autochro-3000 استفاده گردید.

طرح آزمایش و تجزیه آماری

آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد استفاده عبارت بودند از: ۹ تیمار مربوط به زادمایه‌های مایع باکتری *E. cloacae* شامل F_1 تا F_9، یک تیمار شاهد بدون تلقیح (کنترل منفی) و دو تیمار کنترل مثبت ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص کلروفیل

اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص کلروفیل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ٤). مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین شاخص کلروفیل مربوط به زادمایه مایع F_9 بوده است که با تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK و تیمارهای F_3، F_5، F_7، تفاوت آماری معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) داشت و ۷٤/۲ درصد افزایش را نسبت به آن نشان داد (جدول ۸). غلظت کلروفیل برگ شاخص مستقیم سلامتی گیاه و وضعیت رشد آن می‌باشد. دلیل برتری زادمایه F_9 که حاوی گلیسرول، PEG، صمغ‌عربی و گلوکز است را می‌توان به ویژگی‌های مناسب مواد تشکیل‌دهنده آن نسبت داد که می‌توانند بقای باکتری را در طول مدت ذخیره‌سازی بهبود بخشند. لی و همکاران (۲۰۱۷) افزایش مقدار کلروفیل در

۱-Retention time

گیاهان کلزا بر اثر تلقیح با *E. cloacae* HSNJ4 تحت تنش شوری را گزارش کردند. پراجاباتی و مودی (۲۰۱٦) اظهار داشتند که تلقیح با *E. hormaechei* KSB-8 به‌طور قابل‌توجهی باعث افزایش مقدار کلروفیل در گیاه کلزا شده است.

ارتفاع بوته و قطر ساقه

اثر تلقیح با زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر ارتفاع بوته گیاهان کلزا در سطح احتمال ۵ ٪ و بر قطر ساقه در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار شد (جدول ٤). بیشترین ارتفاع بوته ۱۰۷/٦ سانتی‌متر مربوط به زادمایه مایع F_7 بود که با تیمار F_3 و تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت آماری معنی‌دار داشت و ۲۸/٤ درصد افزایش را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند. نتایج قطر ساقه نیز نشان داد بیشترین قطر (۷/۲ میلی‌متر) مربوط به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK با افزایش ۷۷ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) بود در حالی که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK، تیمارهای F_1، F_3، F_5، F_8، F_9 تفاوت آماری معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند. قابل ذکر است که در بین زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه F_5 بیشترین میزان قطر ساقه را، با افزایش ۷۳ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح نشان داد (جدول ۸). ارتفاع بوته و قطر ساقه شاخص‌هایی از رشد رویشی گیاه هستند که افزایش هرکدام از این شاخص‌ها در اثر تلقیح با باکتری نشان از مؤثر بودن تلقیح می‌باشد. رامش و همکاران (۲۰۱٤) افزایش ٤۱/٦۷ درصدی و ٦/۲۵ درصدی ارتفاع بوته سویا و گندم تلقیح شده با *E. cloacae* MDSR9 و چگینی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش ارتفاع بوته در گیاه دارویی شوید بر اثر تلقیح با باکتری *Enterobacter* را گزارش کردند. می‌توان بیان کرد که باکتری‌های محرک رشد با تأثیر بر روی سیستم ریشه سبب افزایش جذب آب و عناصر غذایی در گیاه می‌شوند، همچنین از طریق تولید هورمون‌هایی مثل جیبرلین که روی رشد طولی سلول‌ها به‌ویژه میان‌گره‌های ساقه و اکسین و سیتوکنین که روی تقسیم سلولی نقش دارند، اثر گذاشته، که نتیجه آن افزایش ارتفاع در بوته است (احتشامی و همکاران ۲۰۱٦). اصغر و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که تلقیح با سویه‌های انتخابی باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش قطر ساقه در گیاه کلزا شده است. اکبری و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که تیمارهای آفتابگردان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه، قطر ساقه را نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. به‌نظر می‌رسد که این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه از جمله اکسین به‌طور مستقیم سبب افزایش رشد ساقه شده و با تولید سیتوکینین بر آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز اثر منفی گذاشته و مانع تجزیه پروتئین در محیط داخلی سلول شده که به این وسیله باعث تقسیم سلولی گشته و از این طریق به‌طور غیرمستقیم در افزایش قطر ساقه مؤثر گردیده است (اشفق و همکاران ۲۰۱۱).

تعداد خورجین در بوته

اثر تلقیح با زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر تعداد خورجین گیاهان کلزا در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ٤). باتوجه به مقایسات میانگین، مشاهده شد که بیشترین تعداد خورجین (۲۸/۱۵) مربوط به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK و تیمار F_3 تفاوت آماری معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی با تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت آماری معنی‌دار نشان داد. در بین زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه مایع F_3 بیشترین تعداد خورجین را به خود اختصاص داد که با تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت آماری معنی‌دار داشت (جدول ۸). در کلزا تعداد خورجین در بوته از صفات بسیار مهمی است که

عملکرد دانه به‌شدت به آن وابسته است (علیزاده و همکاران ۲۰۰۳). همچنین تعداد خورجین در بوته تعیین‌کننده پتانسیل عملکرد کلزا است زیرا خورجین‌ها از یک طرف در برگیرنده تعداد دانه‌ها و از طرف دیگر تأمین‌کننده مواد فتوسنتزی مورد نیاز دانه‌ها و تعیین‌کننده وزن آن‌ها هستند (آدامز و گرافیوس ۲۰۰۱). زادمایه مایع F_3 از گلیسرول، نشاسته و PEG تهیه شده است که افزایش تعداد خورجین در آن را می‌توان به ویژگی‌های مناسب مواد تشکیل‌دهنده آن نسبت داد که ویژگی‌های مطلوب این مواد تشکیل‌دهنده باعث افزایش زنده‌مانی باکتری شده بود و در نهایت اثرهای مفید باکتری بر رشد گیاه و افزایش تعداد خورجین را به‌همراه داشت. نوریانی (۲۰۱۵) افزایش تعداد خورجین در بوته در سطح کودی ۲٤۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کاظمی و همکاران (۲۰۰۵) افزایش تعدا خورجین در بوته در اثر تلقیح بذر دو رقم سویا با باکتری *B. japonicum* را گزارش کردند.

تعداد دانه در بوته

اثر تلقیح با زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر تعداد دانه گیاهان کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ٤). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد دانه در بوته به تعداد ۱۲۳٤ در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK شمارش شد که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK، تیمار F_3، F_5 تفاوت آماری معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی با تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت معنی‌دار نشان داد. در بین زادمایه‌های مایع، زادمایه F_5 با میانگین ۱۰۳۰، بیشترین تعداد دانه را به خود اختصاص داد که با تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت آماری معنی‌دار داشت (جدول ۸). تعداد دانه در خورجین یکی از صفات تعیین‌کننده عملکرد محسوب می‌شود. هرچه تعداد دانه در خورجین بیشتر باشد مخزن بزرگتری برای مواد فتوسنتزی تولید شده توسط گیاه ایجاد می‌شود که در نهایت منجر به افزایش عملکرد می‌گردد (تِیو و مورگان ۱۹۷۹). اعتقاد بر این است که نیتروژن به‌دلیل حفظ طولانی مدت بیشترین تعداد برگ ممکن، با حفظ جریان مواد غذایی به‌سوی گل و خورجین موجب افزایش تعداد دانه در خورجین می‌شود (سیدشریفی و همکاران ۲۰۱۲). نوریانی (۲۰۱۵) افزایش تعداد دانه در خورجین در سطح کودی ۲٤۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، حسن‌زاده و همکاران (۲۰۰۸) افزایش ۱۷ درصدی تعداد دانه در سنبله جو و مسعود و همکاران (۲۰۰۳) افزایش تعداد دانه در خورجین و عملکرد دانه کلزا را تحت تأثیر باکتری محرک رشد گزارش نمودند.

حجم ریشه در بوته

باتوجه به تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر حجم ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ٤). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین حجم ریشه در بوته، ۲۰/٥٦ سانتی‌متر مکعب متعلق به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود که نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت آماری معنی‌دار داشت و کمترین حجم ریشه در بوته (٥/٥٦ سانتی‌متر مکعب) متعلق به تیمار شاهد بدون تلقیح بود؛ اما در بین زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه F_5 بیشترین حجم ریشه در بوته را به خود اختصاص داد که با تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۸). کاظمی اسکویی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش حجم ریشه در کلزاهای تلقیح شده با *E. cloacae* تحت تنش شوری را گزارش کردند. لی و همکاران (۲۰۱۷) افزایش طول ریشه در گیاهان کلزا بر اثر تلقیح با *E. cloacae* HSNJ4 تحت تنش شوری را گزارش کردند. شانکار و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تلقیح برنج با *E. cloacae* GS1 به‌طور قابل‌توجهی طول ریشه را در مقایسه با شاهد افزایش داد.

وزن خشک ریشه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌های وزن خشک ریشه نشان داد بالاترین مقدار آن، ۲/۲۶ گرم متعلق به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود که با تمامی تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار نشان داد. کمترین مقدار وزن خشک ریشه، ۰/۶۶ گرم مربوط به تیمار شاهد بدون تلقیح بود. در بین زادمایه‌های مایع، زادمایه مایع F_5 بیشترین میزان وزن خشک ریشه (۱/۶۳ گرم) را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد بدون تلقیح افزایش چشمگیری داشت (جدول ۹). افزایش وزن خشک ریشه نشان‌دهنده افزایش رشد ریشه بوده و افزایش رشد ریشه تاثیر بسزایی در جذب و تغذیه بهتر گیاه دارد. قدمخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش ۲۶ درصدی وزن خشک ریشه در گندم‌های تلقیح شده با سویه‌های مختلف *E. cloacae* همراه با ۵۰ درصد کود سولفات آهن را نسبت به تیمار کودی بدون باکتری گزارش کردند. اشفق و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تلقیح با باکتری‌های محرک رشد بیش از ۲۵ درصد باعث افزایش وزن خشک ریشه ماش شد.

وزن خشک شاخساره

اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن خشک شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج مقایسات میانگین نشان داد که بالاترین میزان وزن خشک شاخساره (۱۲/۷۳ گرم) متعلق به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود که با بقیه تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار نشان داد و پایین‌ترین میزان آن (۳/۸۳گرم) بود که در تیمار شاهد بدون تلقیح دیده شد. قابل ذکر است در بین زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه مایع F_5 بیشترین میزان وزن خشک شاخساره (۹/۸۸ گرم) را به خود اختصاص داد که تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) داشت (جدول ۹). طبق نتایج به‌دست آمده با افزایش میزان نیتروژن در دسترس گیاه، وزن اندام هوایی افزایش یافته است. احتمالاً از مهمترین عواملی که بر وزن اندام هوایی مؤثر است می‌توان به عنصر نیتروژن اشاره کرد. چگینی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش در وزن خشک اندام هوایی گیاه دارویی شوید بر اثر تلقیح با باکتری *Enterobacter* را گزارش کردند. استادی جعفری و همکاران (۲۰۱۲) تأیید کردند با افزایش سطوح کودی بر میزان وزن خشک اندام هوایی به میزان معنی‌داری افزوده می‌شود، به‌طوریکه بیشترین وزن خشک، متعلق به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن بود و وزن خشک حاصل از تیمار کود بیولوژیک تفاوت معنی‌داری با سطوح کودی ۶۰ و ۸۰ کیلوگرم نشان نداد.

عملکرد دانه در بوته

اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر عملکرد دانه در بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). پس از مقایسه میانگین‌های داده‌ها مشاهده شد که بیشترین عملکرد دانه (۳/۰۹ گرم) متعلق به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK و تیمار F_5 تفاوت معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی با بقیه تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت معنی‌دار داشت و کمترین عملکرد دانه (۰/۸۷ گرم) در تیمار شاهد بدون تلقیح دیده شد. در بین زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه F_5 با میانگین ۲/۵۱ گرم بالاترین عملکرد دانه در بوته را به خود اختصاص داد که با تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت آماری معنی‌دار داشت (جدول ۹). عملکرد دانه در بوته تحت تأثیر تیمار باکتری S16-3 در قالب فرمولاسیون‌های نه‌گانه آن قرار گرفته بود و افزایش دو تا سه برابری را در مقایسه با تیمار بدون تلقیح شاهد بودیم. به‌نظر می‌رسد نیتروژن به‌دلیل نقش مهمی که در افزایش رشد رویشی گیاه دارد نهایتا باعث افزایش عملکرد گیاه می‌شود و افزایش مصرف

نیتروژن منجر به افزایش فتوسنتز، آسیمیلات بیشتر و ماده خشک و عملکرد دانه بالاتر می‌گردد (اسدپور و فیاض مقدم ۲۰۰۷). همچنین اثرهای مختلف این باکتری در تثبیت نیتروژن و قابلیت دسترسی بهتر فسفر برای گیاه روندی افزایشی در بهبود رشد گیاه ملاحظه شده و همچنین ترشح هورمون‌های محرک رشد توسط این باکتری مهمترین عامل رشد و افزایش عملکرد دانه در بوته شده است. طاهیر و همکاران (۲۰۱۳) افزایش ۱۳/۱ درصدی عملکرد دانه گندم بر اثر تلقیح با *E. cloacae*، آذرمی و همکاران (۲۰۱۵) افزایش عملکرد دانه کلزا بر اثر تلقیح با باکتری *P. fluorescens* و اکبری و همکاران (۲۰۱۰) افزایش ۹ درصدی عملکرد دانه در گیاه آفتابگردان بر اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با شاهد را گزارش کردند.

عملکرد روغن در بوته

اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر عملکرد روغن در بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). پس از مقایسه میانگین‌های داده‌ها مشاهده شد که بیشترین عملکرد روغن دانه (۱/٤۰ گرم در بوته) در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK تفاوت آماری معنی‌داری نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی با تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت آماری معنی‌دار داشت و کمترین عملکرد روغن دانه (۰/۳۸ گرم در بوته) در تیمار شاهد بدون تلقیح مشاهده شد. در بین زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه F_5 بیشترین عملکرد روغن دانه (۱/۱۲ گرم در بوته) را به خود اختصاص داد که تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار شاهد بدون تلقیح داشت (جدول ۹). عملکرد روغن در بوته تحت تأثیر تیمار باکتری S16-3 در قالب فرمولاسیون‌های نه‌گانه آن قرار گرفته بود و افزایش دو تا سه برابری را در مقایسه با تیمار بدون تلقیح شاهد بودیم. افزایش کاربرد نیتروژن به دلیل کاهش درصد ریزش گل ها و در نتیجه افزایش تعداد خورجین در واحد سطح و نیز اثر بر وزن هزاردانه موجب افزایش عملکرد دانه شده و از این طریق موجب افزایش عملکرد روغن می‌شود (بارلوگ و گرزبیس ۲۰۰٤). عملکرد روغن از حاصلضرب عملکرد دانه در بوته در درصد روغن دانه به دست آمده و تابعی از این دو مؤلفه می‌باشد (آبادیان و همکاران ۲۰۰۸). عملکرد روغن در بوته به‌طور مستقیم تحت تأثیر عملکرد دانه در بوته قرار گرفته است. همچنین اثرهای مختلف این باکتری در تثبیت نیتروژن و قابلیت دسترسی بهتر فسفر برای گیاه روندی افزایشی در بهبود رشد گیاه ملاحظه شده و همچنین ترشح هورمون‌های محرک رشد توسط این باکتری مهمترین عامل رشد و افزایش عملکرد دانه در بوته و در نهایت افزایش عملکرد روغن دانه در بوته شده است. حسن‌زاده قورت تپه و جوادی (۲۰۱٦) افزایش عملکرد روغن کلزا با کاربرد کودهای زیستی توأم با کود نیتروژنه، شهتا و خاواز (۲۰۰۳) افزایش معنی‌دار عملکرد روغن آفتابگردان را با کاربرد کودهای بیولوژیک و محمدورزی و همکاران (۲۰۱۰) افزایش عملکرد روغن در گیاه آفتابگردان بر اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با شاهد را گزارش کردند.

وزن هزار دانه

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن هزاردانه غیرمعنی‌دار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تیمارهای مورد استفاده بر وزن هزاردانه هیچ تفاوت آماری معنی‌دار وجود نداشت و همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۹). وزن هزار دانه یکی از اجزا اصلی عملکرد دانه کلزا بوده و کاهش یا افزایش آن می‌تواند نقش زیادی در کاهش یا افزایش عملکرد دانه داشته باشد (گان و همکاران ۲۰۰٤). پژوهشگران علت افزایش وزن هزار دانه و به‌تبع آن افزایش عملکرد دانه را در شرایط تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به افزایش گسترش ریشه و

حفاظت بیشتر از آن در طول دورهٔ رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه برای جذب بهتر مواد غذایی نسبت دادند (روئستی و همکاران ۲۰۰۶).

وزن خشک کل

اثر تیمارها بر وزن خشک کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان وزن خشک کل، ۱۴/۹۸ گرم در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد که با تمامی تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار نشان داد و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد بدون تلقیح بود. بالاترین میزان وزن خشک کل با میانگین ۱۱/۵۱ گرم در بین زادمایه‌های مایع، در زادمایه F_5 به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح افزایش چشمگیری داشت (جدول ۹). در آزمایش‌های گلخانه‌ای وزن خشک کل گیاه می‌تواند شاخص مهم و مناسب‌تری از شرایط رشد گیاه باشد. ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش معنی‌داری در وزن خشک کل در گیاه ذرت بر اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفاته از جمله *E. cloacae* را گزارش کردند. شهیدی و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که بر اثر تلقیح آفتابگردان با *Enterobacter* sp. Fs-11 وزن خشک گیاهان در مقایسه با شاهد افزایش یافت. صادقی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که وزن خشک کل ذرت در تیمارهایی که کود زیستی به‌کار رفته بود، افزایش یافت. این افزایش وزن ناشی از نقش کلیدی نیتروژن در تغذیه معدنی گیاهان است و از این رو میزان رشد را تعیین می‌کند. همچنین افزایش وزن خشک گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح (شاهد منفی) عمدتاً به‌دلیل تولید مواد تحریک کننده رشد گیاه مانند اکسین و سیتوکینین می‌باشد که موجب توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه شده و گیاه می‌تواند از حجم بیشتری از خاک استفاده کند و به نوعی موجب افزایش بازده جذب آب و عناصر غذایی می‌شود (علیپور و سبحانی پور ۲۰۱۲).

درصد روغن دانه

درصد روغن دانه در گیاه ذرت، در سطح احتمال ۵ درصد متأثر از تیمارهای مورد استفاده بوده است (جدول ٦). پس از مقایسه میانگین داده‌ها مشاهده شد که بیشترین درصد روغن دانه، ٤٧/٠٢ درصد بود که در تیمار F_9 مشاهده شد که با تیمار کودی ۷۰ درصد و ۱۰۰ درصد NPK، تیمار F_1، F_3، F_4، F_8، تفاوت آماری معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی با تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت آماری معنی‌دار داشت و ٧/٤ درصد نسبت به آن افزایش نشان داد و کمترین درصد روغن دانه نیز با میانگین ٤٣/٦ درصد در تیمار F_7 مشاهده شد گرچه تفاوت آماری معنی‌دار با تیمار شاهد بدون تلقیح نداشت اما ۰/۳ درصد نسبت به آن کاهش نشان داد (جدول ۹). افزایش روغن از اهداف اصلی تولید دانه‌های روغنی است. شاخص مهم درصد روغن دانه تحت تأثیر تیمار باکتری S16-3 در قالب فرمولاسیون‌های نه‌گانه آن قرار گرفته بود. افزایش درصد روغن دانه در تیمارهای گفته شده می‌تواند به‌دلیل افزایش فراهمی عناصر غذایی برای گیاه باشد که موجب افزایش میزان روغن در دانه گردیده است. به‌نظر می‌رسد باکتری با تثبیت نیتروژن و انتقال آن به سیستم رشد گیاه موجب ایجاد تعادل در جذب عناصر مورد نیاز گیاه شده و همچنین با حل کردن فسفر نامحلول و در نتیجه قابل جذب شدن آن برای گیاه و با ترشح هورمون اکسین، رشد و توسعه ریشه و بخش‌های هوایی گیاه را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش زیست‌توده و عملکرد دانه در بوته و درصد روغن دانه می‌شود. تلقیح بذر با باکتری به‌دلیل قدرت و کارایی بالایی که در جذب عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن و فسفر از خود نشان می‌دهد باعث تداوم طول عمر برگ در مراحل رشد و نمو گیاه شده و لذا، مدت زمان انجام فتوسنتز در گیاه افزایش یافته و مواد فتوسنتزی بیشتری به دانه‌ها انتقال یافته که می‌تواند در مرحله پر شدن دانه برای گیاه مؤثر باشد و منجر به افزایش وزن دانه، عملکرد دانه و درصد روغن دانه شود

(ساجدی و همکاران ۲۰۱۱). نتایج تحقیقات محمدورزی و همکاران (۲۰۱۰) نشان می‌دهد استفاده از باکتری‌های محرک رشد تأثیری مثبت بر درصد روغن دانه داشته و سبب افزایش عملکرد روغن در گیاه آفتابگردان شده است. اکبری و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که در بذرهای تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد، درصد روغن دانه نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت ضمن آنکه عملکرد بیولوژیک نیز از افزایش ۸ درصدی در چنین حالتی نسبت به عدم تلقیح برخوردار بود. شاوکات و همکاران (۲۰۰٦) در تلقیح باکتری‌های محرک رشد با بذر آفتابگردان به این نتیجه رسیدند که درصد روغن دانه در بیشتر سویه‌های باکتری‌های به‌کار برده شده افزایش یافت. یساری و پاتواردان (۲۰۰۷) گزارش دادند که استفاده همزمان کود زیستی (*Azotobacter* و *Azospirillum*) درصد روغن دانه در آفتابگردان را به مقدار ۱/۷۳ درصد بالا برده است. در مطالعه دیگری تلقیح بذور کلزا با باکتری *Azotobacter* به‌طور معنی‌داری میزان روغن کلزا را در مقایسه با شاهد افزایش داد (اصغر و همکاران ۲۰۰۲).

درصد اسیدهای چرب

نتایج مربوط به کروماتوگرافی گازی و آنالیز روغن دانه گیاه کلزا در جدول ۷ آمده است.

طبق گزارشات (عزیزی و همکاران ۱۹۹۹) مقدار اسیدهای چرب اصلی موجود در روغن دانه کلزا بدین قرار است:

اسید پالمتیک ٦-۲ درصد، اسید اولئیک ۷۵-۵۵ درصد، اسید لینولئیک ۲٤-۱۰ درصد، اسید لینولنیک ۱۵-۸ درصد و مقدار اسید اروسیک ناچیز و در ارقام مختلف کلزا متغییر است.

نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در روغن رقم مورد مطالعه، کیفیت روغن آن را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهند که روغن این رقم دارای میزان مطلوبی از اسید اولئیک و اسید لینولئیک می‌باشند. مهمترین اسید چرب غیراشباع از نظر تغذیه اسید لینولئیک است. این اسید در بدن سنتز نمی‌شود، از این رو باید توسط جیرهٔ غذایی تأمین شود. اسید اولئیک نیز یکی از اسیدهای چرب غیراشباع مهم است که علاوه‌بر اهمیتی که در تغذیه دارد، روغن حاوی آن مقاومت بالایی در برابر اکسیداسیون داشته و برای مصارف پخت و پز بسیار مناسب است (ناصری ۱۹۹۱). روغن دانه کلزا از این نظر درسطح بسیار مطلوب و استانداردی قرارمی‌گیرد.

با آنالیز کروماتوگرافی گازی، ٤ اسیدچرب غیراشباع شامل اسید پالمیتولئیک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک و ۲ اسید چرب اشباع شامل اسید پالمتیک و اسید استئاریک در روغن کلزا شناسایی و تعیین شدند (جدول ۷). در بین اسیدچرب‌های کلزا، اسید اولئیک و لینولئیک بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند (جدول ۷).

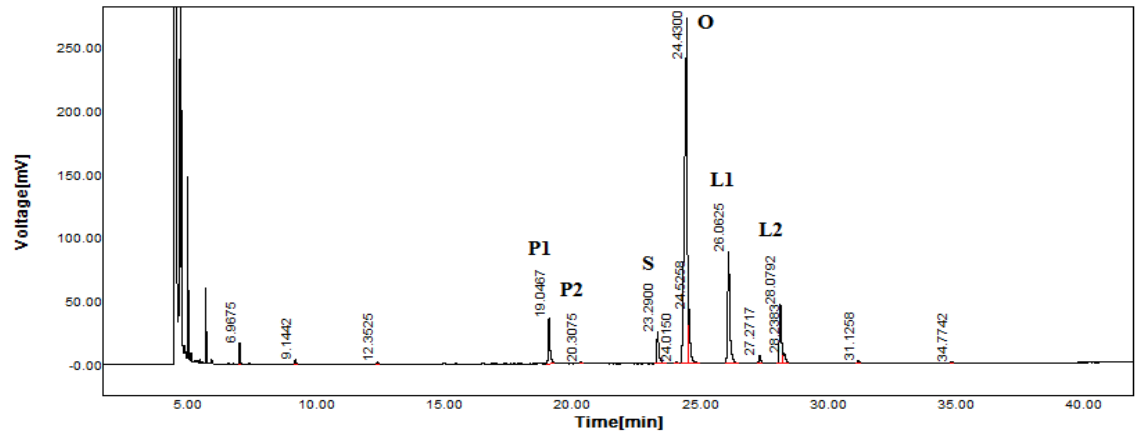
نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی (جدول ۷ و شکل‌های ۱ و ۲)، تیمار F_9 بالاترین درصد اسید اولئیک را به خود اختصاص داده است. این اسید چرب جز اسیدهای چرب غیراشباع محسوب می شود. افزایش اسیدهای چرب غیراشباع نیز باعث افزایش کیفیت روغن کلزا می‌گردد (احمد و عابدین ۲۰۰۰). اعمال زادمایه مایع F_9 باعث کاهش درصد اسید لینولئیک و اسید لینولنیک کلزا شدند. به‌طوریکه بیشترین درصد اسید لینولئیک (۱۵/۳ درصد) و اسید لینولنیک (٦/٦ درصد) در تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) مشاهده گردید (جدول ۷).

از نظر اسیدهای چرب اشباع نیز بیشترین مقدار اسید پالمتیک و اسید استئاریک در تیمار شاهد بدون تلقیح مشاهده گردید (جدول ۷). از نظر تغذیه هرچه میزان این اسیدچرب‌ها در دانه کلزا کم باشد بهتر است. هر سه تیمار فاقد اسید اروسیک بودند. این اسید چرب ۲۲ کربنه برای سلامتی انسان بسیار مضر است و روغنی که فاقد این اسید چرب باشد از نظر تغذیه‌ای در رده عالی قرار می‌گیرد (ناصری ۱۹۹۱).

اسید اولئیک با اسیدهای چرب لینولئیک، لینولنیک، استئاریک و پالمتیک همبستگی منفی داشت. در این

راستا نتایج مشابهی در آفتابگردان (فلاجلا و همکاران ۲۰۰۲) و کلزا (مولر و شیرهولت ۲۰۰۲ و عبدل و فیاضول ۲۰۰۶) گزارش شده است. بنابراین، گزینش برای افزایش اسید اولئیک سبب کاهش اسیدهای چرب مزبور می‌شود. به‌طور کلی افزایش درصد اسید اولئیک نشان‌دهنده پایداری به دما و کیفیت روغن جهت سرخ کردن مواد غذایی و نیز بالاتر بودن درصد اسید چرب لینولئیک حاکی از بهبود ارزش روغن در تغذیه مستقیم می‌باشد (خواجه‌پور ۲۰۰۵). از سوی دیگر، با افزایش درصد اسید لینولنیک در روغن‌های گیاهی، به‌دلیل افزایش سرعت اکسیده شدن و در نتیجه کاهش پایداری روغن و نیز افزایش طعم‌های غیرطبیعی در روغن، از ارزش مصرفی آن کاسته می‌شود (خواجه‌پور ۲۰۰۵ و محمدی و همکاران ۲۰۰۷).

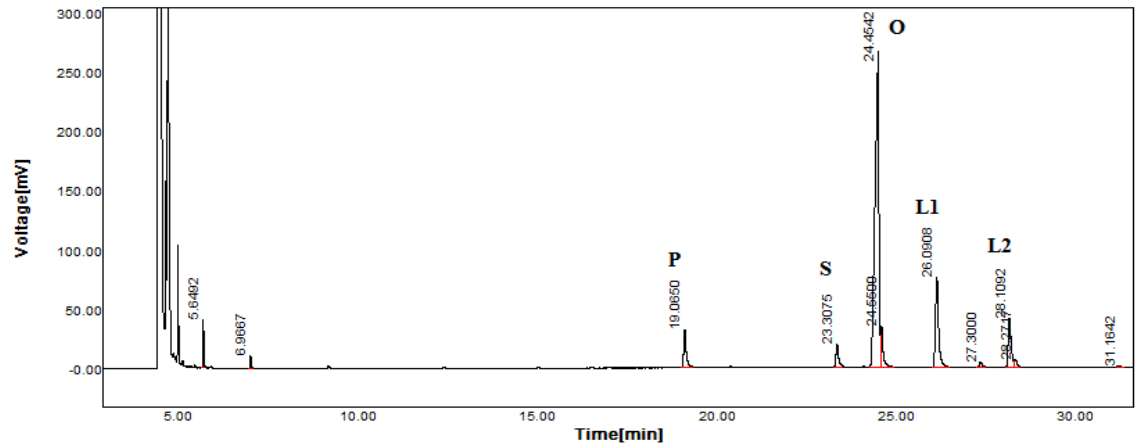
تلقیح بذور با باکتری *انتروباکتر* باعث کاهش اسیدچرب‌های اشباع (اسید پالمتیک و اسید استئاریک) و افزایش اسید چرب غیراشباع (اسید اولئیک) در مقایسه با تیمار شاهد بدون تلقیح گردید. محققین دیگر گزارش کردند که با تلقیح بذور آفتابگردان به باکتری‌های افزاینده رشد، ترکیب اسیدهای چرب اشباع مانند اسید پالمتیک و اسید استئاریک به‌طور معنی‌داری کاهش و اسیدهای چرب غیراشباع مانند اسید اولئیک و اسید لینولئیک افزایش یافت (شهاتا و ال-خاوز ۲۰۰۳). همچنین فراهمی هر چه بیشتر عناصر غذایی در خاک، ضمن افزایش عملکرد روغن، احتمالاً با کاهش درصد اسید لینولنیک و نیز افزایش درصد اسید اولئیک منجر به بهبود ارزش کیفی روغن می‌شود. از بررسی یافته‌های آزمایش می‌توان نتیجه گرفت این باکتری می‌تواند به‌طور مستقیم روی رشد گیاه به‌وسیله افزایش جذب نیتروژن، تولید فیتوهورمون‌ها، حل کردن مواد معدنی مفید باشد (کینی ۱۹۹۷). استیر و سیلور (۱۹۹۰) و خالیکو (۲۰۰۴) همچنین گزارش کردند میزان دسترسی به نیتروژن روی ترکیب اسیدهای چرب روغن آفتابگردان تاثیر می‌گذارد. سید شریفی (۲۰۱۶) گزارش کرد که اسیدهای چرب غیراشباع سویا با کاربرد کودهای زیستی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نوشین و همکاران (۲۰۱۳) در کلزا گزارش کردند که باکتری *Azospirillum* میزان اسید اولئیک و اسید لینولنیک را افزایش داد ولی میزان اسید اروسیک را کاهش داد.



شکل ۱- کروماتوگرام گازی حاصل از متیل استرهای اسیدهای چرب روغن دانه گیاه کلزا (شاهد منفی)

P1: اسید پالمتیک **P2**: اسید پالمیتولئیک **S**: اسید استئاریک

O: اسید اولئیک **L1**: اسید لینولئیک **L2**: اسید لینولنیک



شکل ۲- کروماتوگرام گازی حاصل از متیل استرهای اسیدهای چرب روغن دانه در گیاه کلزا (زادمایه مایع F_9)

P: اسید پالمتیک **S: اسید** استئاریک **O : اسید اولئیک**

L1: اسید لینولئیک **L2: اسید** لینولنیک

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس داده‌ها صفات رشد گیاهی شامل شاخص کلروفیل، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته و حجم ریشه در بوته در گیاه کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		شاخص کلروفیل	ارتفاع بوته	قطر ساقه	تعداد خورجین در بوته	تعداد دانه در بوته	حجم ریشه در بوته
تیمار	۱۱	۱۸/۷٤**	۱۷۰/۲۹*	۰/۰۲**	٦۱/٥۳**	۱۳۰۹۹٥/٤٦**	۳۹/۱٤**
خطای آزمایش	۲٤	۱/۸۸	٥۹/۸۳	۰/۰۰۲	۸/۰۸	۱٥۹۳۹/٤٥	۲/٥٥
ضریب تغییرات (٪)		۸/۹۹	۷/۷۱	۷/۳۹	۱۳/٥٤	۱٤/۲۱	۱۳/٦۳

* و ** به‌ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥٪ و ۱ ٪ می‌باشد.

جدول ۵- تجزیه واریانس داده‌ها صفات رشد گیاهی شامل وزن خشک شاخساره، ریشه، عملکرد دانه در بوته، عملکرد روغن در بوته، وزن هزاردانه، وزن خشک کل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	عملکرد دانه در بوته	عملکرد روغن در بوته	وزن هزاردانه	وزن خشک کل
تیمار	۱۱	۱۱/۸۷**	۰/۳۹**	۰/۸۱**	۰/۱۸**	۰/۰۱^{ns}	۱٦/٤۸**
خطای آزمایش	۲٤	۱/۱۷	۰/۰۳	۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۰۱	۱/٥۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۲/۰۹	۱۱/۹٤	۱٥/۳۲	۱٥/٥٥	۷/۸۹	۱۱/۷۹

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪ می‌باشد.

جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر درصد روغن دانه در گیاه کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		درصد روغن دانه
تیمار	۱۱	۳/۰۹*
خطای آزمایش	۱۲	۱/۰۴
ضریب تغییرات (٪)		۲/۲۶

* بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪ می‌باشد.

جدول ۷- اندازه‌گیری درصد اسید چرب روغن دانه در گیاه کلزا

	اسیدهای چرب اشباع		اسیدهای چرب غیراشباع			
تیمار	اسید پالمتیک	اسید استئاریک	اسید پالمیتولئیک	اسید اولئیک	اسید لینولئیک	اسید لینولنیک
شاهد بدون تلقیح	۵/۵۷	٤/٤٥	۰/۱۸	۵۱/۰۲	۱۵/۳۲	٦/۵٦
زادمایه F_9	۵/٤٦	۳/۲۹	–	۵۳/۱۱	۱٤/٤۸	٦/٤۷

F9: شامل (گلیسرول، گلوکز، صمغ‌عربی، PEG)

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات رشد گیاهی شامل شاخص کلروفیل، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته و حجم ریشه در بوته

تیمار	شاخص کلروفیل	ارتفاع بوته (cm)	قطر ساقه (cm)	تعداد خورجین در بوته	تعداد دانه در بوته	حجم ریشه در بوته (cm^3/plant)
F_1	۱۳/۷٦^{ef}	۱۰۲/٤^{a}	۰/٦۷^{abc}	۱۸/۷۰^{c}	۸۳۰/٦^{bcd}	۹/٤٤^{e}
F_2	۱۲/۳۵^{fg}	۹٦/۷۷^{abc}	۰/٦۳^{bc}	۱۹/٤۱^{c}	۷٤۲/۷^{d}	۱۰^{de}
F_3	۱٦/۷۷^{abc}	۸۷/۲۲^{bc}	۰/٦۷^{abc}	۲۵/۲٦^{ab}	۱۰۰۵^{abc}	۱۲/۲۲^{bcde}
F_4	۱۳/٤۵^{ef}	۱۰۲/۳^{a}	۰/٦۱^{c}	۲۰/۲۲^{bc}	۸۲۷/۳^{bcd}	۹/٤٤^{e}
F_5	۱٦/٤۵^{abcd}	۱۰۳/٤^{a}	۰/۷۰^{ab}	۲۲/۸۱^{bc}	۱۰۳۰^{abc}	۱۳/۳۳^{bc}
F_6	۱٤^{def}	۱۰٦/۳^{a}	۰/٦۲^{bc}	۲۰/۸۹^{bc}	۷۹۸/٦^{cd}	۱۱/٦۷^{bcde}
F_7	۱۷/٦۳^{ab}	۱۰۷/٦^{a}	۰/٦۲^{bc}	۲۰/۸۱^{bc}	۸٤۸/٤^{bcd}	۱۰/۵٦^{cde}
F_8	۱۵/۵۱^{bcde}	۱۰۲/٤^{a}	۰/٦۷^{abc}	۲۲/۱۱^{bc}	۹۵۸/۹^{bcd}	۱۰/۵٦^{cde}
F_9	۱۸/۹٤^{a}	۱۰۰/٦^{ab}	۰/٦۸^{abc}	۲۰/۷۸^{bc}	۹٤٤/۱^{bcd}	۱۲/۷۸^{bcd}
Control	۱۰/۸۷^{g}	۸۳/۷۸^{c}	۰/٤۱^{d}	۹/۲۹^{d}	۳۸۵/۸^{e}	۵/۵٦^{f}
NPK70	۱٤/۸۱^{cdef}	۱۰٤^{a}	۰/٦٦^{abc}	۲۳/۵۲^{abc}	۱۰۵۷^{ab}	۱٤/٤۵^{b}
NPK100	۱۸/۵۳^{a}	۱۰٦/۸^{a}	۰/۷۲^{a}	۲۸/۱۵^{a}	۱۲۳۴^{a}	۲۰/۵٦^{a}

برای هر صفت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ ٪ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

F_1: گلیسرول، ترهالوز، کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC)، F_2: گلیسرول، ترهالوز، پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP)، F_3: گلیسرول، نشاسته، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F_4: ترهالوز، صمغ‌عربی، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F_5: صمغ‌عربی، نشاسته، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F_6 : ترهالوز، نشاسته، پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP)، F_7: گلیسرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ‌عربی، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F_8: لاکتوز، فسفات پتاسیم، سولفات منیزیم، F_9: گلیسرول، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، صمغ‌عربی، گلوکز

جدول ۹– مقایسه میانگین صفات رشد گیاهی شامل وزن خشک ریشه، وزن خشک شاخساره، عملکرد دانه در بوته، عملکرد روغن در بوته، وزن هزاردانه، وزن خشک کل و درصد روغن دانه

تیمار	وزن خشک ریشه (g/plant)	وزن خشک شاخساره (g/plant)	عملکرد دانه در بوته (g/plant)	عملکرد روغن در بوته (g/plant)	وزن هزاردانه (g/plant)	وزن خشک کل (g/plant)	درصد روغن دانه
F_1	۱/۳۹^{bc}	۸/۸۷^{b}	۲/۲۲^{b}	۱/۰۳^{b}	۰/۹۱	۱۰/۲۶^{b}	٤٦/۸٦^{ab}
F_2	۱/۳۲^{c}	۸/٤۹^{b}	۱/۹۸^{b}	۰/۸۸^{b}	۰/۸۵	۹/۸۱^{b}	٤٤/۲۸^{cde}
F_3	۱/۳۸^{bc}	۸/۹۹^{b}	۲/٤۳^{b}	۱/۰۹^{b}	۰/۸۲	۱۰/۳۸^{b}	٤۵/۲۰^{abcde}
F_4	۱/۲۹^{c}	۸/۲٦^{b}	۲/۰۸^{b}	۰/۹٤^{b}	۰/۸۵	۹/۵۵^{b}	٤۵/۲۰^{abcde}
F_5	۱/٦۳^{bc}	۹/۸۸^{b}	۲/۵۱^{ab}	۱/۱۲^{b}	۰/۸۵	۱۱/۵۱^{b}	٤٤/٤۸^{bcde}
F_6	۱/۳۹^{bc}	۸/٦۳^{b}	۲/۰۳^{b}	۰/۸۹^{b}	۰/۹۳	۱۰/۰۳^{b}	٤۳/۷۰^{de}
F_7	۱/۵۷^{bc}	۹/۳٦^{b}	۲/۱۸^{b}	۰/۹۵^{b}	۰/۹۱	۱۰/۹۲^{b}	٤۳/٦٤^{e}
F_8	۱/٤۳^{bc}	۹/۲۹^{b}	۲/۳۷^{b}	۱/۰۹^{b}	۰/۸۲	۱۰/۷۱^{b}	٤٦/۱۹^{abcd}
F_9	۱/۵۹^{bc}	۹/٤۳^{b}	۲/۳٤^{b}	۱/۱۰^{b}	۰/۸۰	۱۱/۰۲^{b}	٤۷/۰۲^{a}
Control	۰/٦٦^{d}	۳/۸۳^{c}	۰/۸۷^{c}	۰/۳۸^{c}	۰/۸۲	٤/٤۹^{c}	٤۳/۷۹^{de}
NPK70	۱/٦۹^{b}	۹/۸۵^{b}	۲/۵۳^{ab}	۱/۱۷^{ab}	۰/۸۲	۱۱/۵٤^{b}	٤٦/۵۸^{abc}
NPK100	۲/۲٦^{a}	۱۲/۷۳^{a}	۳/۰۹^{a}	۱/٤۰^{a}	۰/۹۱	۱٤/۹۸^{a}	٤۵/۳۲^{abcde}

برای هر صفت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ ٪ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری

تیمار کودی ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK و استفاده از باکتری *E. cloacae* در قالب فرمولاسیون‌های نه‌گانه آن اثرات افزایشی معنی‌داری بر ویژگی‌های زراعی گیاه کلزا رقم هایولا ۳۰۸ اعم از تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته، قطر ساقه، ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل برگ، حجم ریشه در بوته، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه و دانه، وزن خورجین، عملکرد دانه در بوته، عملکرد روغن در بوته، درصد روغن دانه و درصد اسیدهای چرب روغن کلزا داشته است. اثر تلقیح زادمایه‌های مایع *E. cloacae* بر وزن هزاردانه غیرمعنی‌دار بود. چون توان باکتری در قالب زادمایه‌های مایع در توسعه اندام هوایی و بهبود شرایط تغذیه‌ای اندام هوایی بیشتر از ریشه اهمیت دارد، لذا تیمارهای باکتریایی در تمام صفات اندازه‌گیری شده در مقایسه با تیمار شاهد نتیجه مناسب‌تری به‌دست دادند. با این تفاوت که برخی از زادمایه‌های مایع اثرگذاری بهتری داشتند. در پایان باتوجه‌به‌مجموع شاخص‌هایی که در این تحقیق اندازه‌گیری شد شاید بتوان زادمایه‌های F_5 و F_9 را برای انجام مطالعات بعدی و بیشتر پیشنهاد نمود، در این میان زادمایه F_5 در افزایش زنده‌مانی باکتری در مدت ذخیره‌سازی و در نهایت اثرهای مفید باکتری بر رشد گیاه و افزایش بیشتر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مقایسه با سایر زادمایه‌های مایع *E. cloacae* بهترین نتیجه را به همراه داشت. لازم به ذکر است که این تحقیق فقط توانایی چند ماده حامل را مقایسه کرده است و جهت تکمیل و کاربردی نمودن نتایج حاصل از این آزمایش، پیشنهاد می‌شود برای بررسی اثرهای این حامل‌ها بر رشد گیاهان، آزمایشاتی در شرایط واقعی‌تر یعنی در بستر خاک و در شرایط مزرعه انجام گیرد.

منابع مورد استفاده

Abadian H, Latifi N, Kamkar B and Bagheri B. 2008. The effect of late sowing date and plant density on quantitative and qualitative characteristics of canola (RGS-003) in Gorgan. Journal of Agricultural and Natural Resources Sciences. 15 (5): 78-87. (In Persian).

Abdul M and Fayyazul H. 2006. Effects of sulphur on fatty acid accumulation in *Brassica* cultivars. International Journal of Agricultural and Biological. 5: 588-592.

Adams MW and JE Grafius. 2001. Yield compensation alternative interperation. Crop Science. 11: 33-35.

Ahmad A and Abdin MZ. 2000. Effect of sulphur application on lipid, RNA and fatty acid content in developing seeds of rapeseed (*Brassica campestris* L.). Plant Sciences. 150: 71-76.

Akbari P, Ghalavand A and Modarres Sanavy SAM. 2010. Effects of different nutrition systems and biofertilizer (PGPR) on phenology period yield and yield components of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Journal of Crop Production. 2 (3): 119-134. (In Persian).

Alipour ZT and Sobhanipour A. 2012. The Effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescens* inoculation on maize growth and fe uptake. Annals of Biological Research. 3: 1661-1666.

Alizadeh Kh, FeiziAsl V and Eskandari M. 2003. Optimal levels for some characteristics in *Brassica* oilseed crops in the cold drylands of Iran. Brassica (An International Journal of Brassicas). 5 (3,4): 48-52.

Asadpour SH and Fayaz Moghadam A. 2007. Effects of different planting date and nitrogen levels on corn forage yield and relevant characteristics to quality (VAR.SC704). Journal of Agricultural Science. 17 (1): 39-49. (In Persian).

Asghar HN, Zahir ZA, Arshad M and Khaliq A. 2002. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their groth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils. 35: 231-237.

Asghar HN, Zahir ZA, Arshad M and Khaliq A. 2004. Relationship between invitro production of auxins by rhizobacteria and their growth promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils. 35: 231-237.

Ashfaq Anjum M, Zahir ZA, Ashraf M and Arshad M. 2011. Isolation and screening of rhizobia for auxin biosynthesis and growth promotion of mungbean (*Vigna radiata* L.) seedlings under axenic conditions. Soil Environment. 30 (1): 18-26.

Azadmard Damirchi S. 2012. Food chemistry and decomposition. Publication of amidi. (In Persian).

Azarmi F, Malakouti MJ, Khavazi K and Saghafi K. 2015. Effect of simultaneous application of *Pseudomonas fluorescens* and phosphate fertilizers on yield and uptake of phosphorous and micronutrients in canola. Journal of Soil Biology. 3(1): 21-30. (In Persian).

Azizi M, Soltani A and Khavarikhorasani S. 1999. Rapeseed, Physiology, Agriculture, Breeding and Biotechnology (Translation). Publication of University Mashhad. (In Persian).

Barlog, P and Grzebisz W. 2004. Effect of timing and nitrogen fertilizer application on winter oilseed rape (*Brassica nupus* L.). I. growth dynamics and seed yield. Journal of Agronomy and Crop Science. 190: 305-310.

Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR and Hernandez JP. 2014. Advances in plant growth promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives. Plant and Soil, 378:1–33.

Chegeni Z, Zolfaghari M, Sedighi Dehkordi F and Mahmoodi Sourestani M. 2018. The Effect of Mycorrhizal fungi, PGPRs and chemical fertilizer on yield and essential oil content of dill (*Anethum graveolens* L.) seed. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 28(4): 93-104. (In Persian).

Ehteshami SMR, Kashani M and Yousefirad M. 2016. Effect of seed inoculation with *Pseudomonas* and *Azotobacter* bacteria on quantitative and qualitative yield of two sesame cultivars (*Sesamum indicum*

L.). Iranian Journal of Seed Science and Research. 3(3):47-57. (In Persian)

Flagella Z, Rotunnon T, Tarantino E, Di-Caterina R and Decaro A. 2002. Changes in seed yield and oil fatty acid composition of high oleic sunflower (*Helianthus annus* L.) hybrids in relation to sowing date and water regime. European Journal of Agronomy. 17: 3. 221-230.

Gan Y, Angadi SV, Cutforth H, Potts D, Angadi VV and McDonald CL. 2004. Canola and mustard response to short periods of temperature and water stress at different developmental stages. Canadian Journal of Plant Science. 84: 697-704.

Ghadamkhani A, Enayatizamir N and Norouzi Masir M. 2018. Effect of plant growth promoting bacteria on soil available iron and its uptake by wheat. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 28(2): 53-64. (In Persian).

Ghasemi Piranlo F, Sarikhani MR and Najafi NA. 2019. Study the survival of *Enterobacter cloacae* bacteria in several solid carriers and effect of prepared inoculants on ggermination and growth of wheat. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 29 (3): 167-180. (In Persian).

Ghasemi Piranlo F. 2018. The efficiency of several solid and liquid carriers to increase the survival of *Enterobacter cloacae*. MSc. Faculty of Agriculture, University of Tabriz.

Han HS, Supanjani K and Lee D. 2004. Effect of coinoculation with phosphate and pottasum solublizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Agronomy Journal. 24: 169- 176.

Hasanzadeh A and Javadi H. 2016. Study on the effects of inoculation with biofirtilizers (*Azotobacte*r and *Azospirillum*) and nitrogen application on oil, yield and yield components of spring canola in west Azerbaijan. Journal of Crop Production and Processing. 5 (18): 39-50. (In Persian).

Hassanzadeh E, Mazaheri D, Chaichi MR and Khavazi K. 2008. Efficiency of phosphorus solubilizing bacteria and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barley cultivar (Karoon Dar Kavir). Pajouhesh and Sazandegi. 77: 111-118.

Herrmann L and Lesueur D. 2013. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. Applied Microbiology and Biotechnology. 97:8859–8873.

Jambhulkar PP and Sharma P. 2014. Development of bioformulation and delivery system of *Pseudomonas fluorescens* against bacterial leaf blight of rice *Xanthomonas oryzae* cv. Oryzae. Journal of Environmental Biology. 35 (5): 843-849.

Kadivar SH, Ghavami M, Gharachorloo M and Delkhosh B. 2010. Chemical evaluation of oil extracted from different varieties of colza. Journal of Food Technology and Nutrition. 7 (2): 19-29.

Kazemi Oskuei B, Bandehagh A, Sarikhani MR and Komatsu S. 2018. Protein profiles underlying the effect of plant growth promoting *rhizobacteria* on Canola under osmotic stress. Journal of Plant Growth Regulation. 37 (2): 560-574.

Kazemi S, Galeshi SA, Ghanbari A and Kianoush GhA. 2005. Effects of sowing date and rhizobium inoculation on yield and its components in soybean. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 12(4): 80-87. (In Persian).

Khajehpour MR. 2005. Industrial Crops. Jahade-e-Daneshghahi Isfahan Press. (In Persian).

Khaliq A. 2004. Irrigation and nitrogen management effects on productivity of hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.). Ph.D. thesis, Department of Agronomy, University of Agriculture. Faisalabad, Pakistan.

Khatamain OS, Modares Sanavy SAM, Ghanati F and Mostavafi M. 2011. Evaluation of yield, its components and some morphological traits of sixteen rapeseed oil cultivars in Arak region. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 21(3): 147-161. (In Persian).

Khayavi M, Baghaei N and Nosrati S. 2017. Oilseed rape production guidelines. Ministry of Agriculture Jihad. Zanjan, Iran. (In Persian).

Kinny AJ. 1997. Genetic engineering of oil seeds for desired traits. 19: 149-166.

Li H, Lei P, Pang X, Li S, Xu H, Xu Z and Feng X. 2017. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant *Enterobacter cloacae* HSNJ4. Applied Soil Ecology. 119: 26-34.

Mashhadi Asghari S and Aliasgharzadeh N. 2005. Comparison of five carriers of Sinorrhizobium meliloti to produce alfalfa inoculant. Journal Water and Soil Sciences. 8(4): 63-75. (In Persian).

Masood M, Shamsi IH and Khan N. 2003. Impact of row spacing and fertilizer levels (Diammonium phosphate) on yield and yield components of canola. Asian Journal of Plant Sciences. 2 (6): 454-456.

Mohamadvarzi R, Habibi D, Vazan S and Pazoki AR. 2010. Effect of plants growth promoting rhizobacteria and Nitrogen fertilizer on yield and yield components of sunflower. 5th National Conference on New Ideas in Agriculture.Esfahan, Iran. Pp. 1-11. (In Persian).

Mohammadi T, Azizi MH and Taslimi A. 2007. Relation of fatty acids composition with stability of sunflower and canola oil blends. Journal of Food Science and Technology. 4: 67–76.

Moller C and Schierholt A. 2002. Genetic variation of palmitate and oil content in a winter oilseed rape doubled haploid population segregating for oleat content. Crop Science. 42: 379-384.

Moradi Sh and Sarikhani MR. 2016. Comparison of dissolution of phosphate from sources of phosphate rock and Tricalcium phosphate by some phosphate solubilizing bacteria. Second National Congress for the Development of Agricultural Science and Natural Resources. Gorgan. Iran. Pp. 1-6. (In Persian).

Naseri F. 1991. Oil Seeds (translation). Publication of Astan Qods Razavi, Mashhad.

Nelda R, Paz R, Masson L, Ortiz J, Gonzalez K, Tapia K and Dobaganes C, 2007. Effect of a-tocopherol, a-tocotrienol and rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant-stripped canola oil (*Brassica* Sp.) at high temperature. Food Chem. 104: 383-389.

Nosheen A, Bano A and Ullah F. 2013. The role of plant growh promoting rhizobacteria on oil yield and biodiesel production of Canola (*Brassica napus* L.). Energy Sources. 35: 1574-1581.

Nouriyani H. 2015. Effect of different nitrogen levels on yield, yield components and some quality characteristics of two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.). Journal of Crop Production and Processing. 5(16): 233-241. (In Persian).

Ostadi Jaafari A, Rezvani Moghaddam P and Ghorbani R. 2012. Study of Beneficial Levels and Effect of *Azotobacter* spp. and *Azospirillium* spp.Iranian Journal of Field Crops Research. 10 (2): 277-283.

Prajapati K and Modi HA. 2016. Growth Promoting Effect of Potassium Solubilizing *Enterobacter hormaechei* (KSB-8) on Cucumber (*Cucumis sativus*) under Hydroponic Conditions. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 3 (5): 168-173.

Ramesh A, Sharma SK, Sharma MP, Yadav N and Joshi OP. 2014. Plant growth promoting traits in *Enterobacter cloacae* subsp. dissolvens MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation. Agricultural. Research. 31: 53–66.

Roesti D, Gaur R, Johri BN, Imfeld G, Sharma S, Kawaljeet K and Aragno M. 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rainfed wheat fields. Soil Biology and Biochemistry. 38. 1111–1120.

Sadeghi S, Heidari Gh and Sohrabi Y. 2015. Effect of biological fertilizer and fertilization management on some growth indices of two maize varieties. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 25(3): 43-60. (In Persian).

Saeed KS, Ahmed SA, Hassan IA and Ahmed PH. 2015. Effect of biofertilizer and chemical fertilizer on growth and yield in cucumber *Cucumis sativus* in green house condition. Pakistan Journal of Biological Sciences. 18: 129–134.

Sajedi NA, Madani H and Mirzakhani M. 2011. Evaluation of biochemical fertilizers on agronomical traits and oil percentage in sunflower. New Finding in Agriculture. 5(4): 377-387. (In Persian).

Sarikhani MR, Khoshru B, Greiner R. 2019. Isolation and identifcation of temperature tolerant phosphate solubilizing bacteria as a potential microbial fertilizer. World Journal of Microbiology and Biotechnology 35:126

Sarikhani MR, Oustan S, Ebrahimi M and Aliasgharzad N. 2018. Isolation and identification of potassium releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. European Journal of Soil Science. 9p.

Sarikhani MR, Ali Asgharzad N and Khooshroo B. 2018. Effectiveness study of phosphate solubilizing bacteria in the formulation of phosphatic microbial fertilizers on Corn. Iranian Journal of Soil and Water Research. 49(1): 71-81. (In Persian).

Savic TB, Kricka T, Voca N, Jurisic V and Matin A. 2009. Effect of storage temperature on rapeseed quality. Agricultural Conspectus Science. 74 (3): 143-147.

Seyed Sharifi R. 2016. Aplication of biofertilizers and zink increases yield, nodulation and unsaturatedfatty acids of soybean. Zemdirbyste- Agriculture. 103 (3): 251-258.

Seyed sharif R, Seyyedi MN and Zaefizadeh M. 2012. Influence of various levels of nitrogen fertilizer on grain yield and nitrogen use efficiency in canola cultivars. Journal of Crops Improvement. 13(2): 51-60. (In Persian).

Shahid M, Hameed S, Imran A, Ali S and Elsas JD. 2012. Root colonization and growth promotion of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by phosphate solubilizing *Enterobacter* sp. Fs-11. World J Microbiol Biotechnol. 28:2749–2758.

Shankar M, Ponraj P, Ilakkiam D and Gunasekaran P. 2011. Root colonization of a rice growth promoting strain of *Enterobacter cloacae.* Journal of Basic Microbiology. 51: 523–530.

Shaukat K, Afrasayad S and Hasman S. 2006. Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. Journal of Agricultural Research. 1: 573-581.

Shehata MM and EL-Khawas SA. 2003. Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower yield. Pakistan Journal of Biological Sciences. 6 (14): 1257-1268.

Steer BT and Seiler GI. 1990. Changes in fatty acid composition of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds in response to time of nitrogen application, supply rates and defoliation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 51: 11-26.

Tahir M, Sajjad Mirza M, Zaheer A, Rocha Dimitrov M, Smidt H and Hameed S. 2013. Isolation and identification of phosphate solubilizer *Azospirillum*, *Bacillus* and *Enterobacter* strains by 16S rRNA sequence analysis and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). Australian Journal of Crop Science. 7 (9):1284-1292.

Tayo TO and Morgan DG. 1979. Factor influencing flower and pod development in oilseed rape. Journal of Agricultural Science - Cambridge Core. 92: 363-373.

Yasari E and Patwardhan AM. 2007. Effects of (*Azotobacter* and *Azosprillium*) Inoculants and Chemical Fertilizers on Growth and Productivity of Canola (*Brassica napus* L.). Asian Journal of Plant Sciences. 6 (1): 77-82.